

WPŁYW JEDNOCZESNEJ INOKULACJI LUCERNY  
(*MEDICAGO SATIVA* L.) SZCZEPAMI *SINORHIZOBIUM MELILOTI* I  
*HERBASPIRILLUM FRISINGENSE* W STOSUNKU DO ZACHODZĄCYCH  
INTERAKCJI POMIĘDZY SZCZEPAMI BAKTERII

ALICJA NIEWIADOMSKA\*, DOROTA SWĘDRZYŃSKA

Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej,  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,  
ul. Szydlowska 50, Poznań, Polska

Adres e-mail do korespondencji: alicja.niewiadomska@onet.eu

**Słowa kluczowe:** Koinokulacja, interakcja, aktywność nitrogenazy, brodawkowanie.

**Streszczenie:** Celem doświadczenia była analiza wzajemnych relacji zachodzących pomiędzy bakteriami endofitycznymi z rodzaju *Herbaspirillum frisingense* i bakteriami brodawkowymi *Sinorhizobium meliloti* Bp oraz zbadanie kondycji roślin poddanej koinokulacji wyżej wymienionymi szczepami w warunkach *in vitro*. W badaniu oddziaływania *Herbaspirillum frisingense* na *Sinorhizobium meliloti* Bp we wszystkich trzech kombinacjach (hodowla 48 h, osad i supernatant) zanotowano stymulację wzrostu wysianych bakterii z rodzaju *Sinorhizobium*. Z kolei badanie oddziaływania pomiędzy szczepem *Sinorhizobium meliloti* a szczepem *Herbaspirillum frisingense* wykazało, że w przypadku hodowli i supernatantu zanotowano antagonistyczne oddziaływanie. Na podstawie uzyskanych wyników z badań przeprowadzonych w warunkach laboratoryjnych nad efektem jednoczesnej inokulacji lucerny omawianymi szczepami bakterii *Sinorhizobium meliloti* i *Herbaspirillum frisingense*, stwierdzono korzystne oddziaływanie takiego szczepienia na proces symbiozy i plonowanie lucerny siewnej.

## WPROWADZANIE

Azot jest istotnym składnikiem odżywczym roślin, szeroko stosowanym jako N-nawóz do poprawy wydajności rolniczej ważnych roślin uprawnych [12]. Ciekawą alternatywą pozwalającą uniknąć lub ograniczyć stosowanie N-nawozów, może być wykorzystanie bakterii (PGPB) stymulujących wzrost i wydajność wielu gatunków roślin, co pomogłoby rozwiązać wiele problemów rolniczych i ekologicznych [13].

Należy zwrócić uwagę na fakt, że drobnoustroje, które żyją w naturalnym środowisku wchodzą często w różnorodne wzajemne stosunki nie tylko z innymi drobnoustrojami, ale także z roślinami. Niektóre interakcje przynoszą korzyści obu partnerom lub nawet czasami są one niezbędne do prawidłowego ich funkcjonowania. Oczywiście istnieją także sytuacje, gdy te relacje stają się niekorzystne dla jednego lub nawet obu partnerów. Sposoby, za pomocą których drobnoustroje wchodzą w asocjacje z organizmami wyższymi, są różnorodne. Niektóre wynikają z bezpośrednich oddziaływań między mikroorganizmami a tkankami organizmów żywych, inne mają charakter pośredni i są spowodowane modyfikacjami środowiska [2].

Zjawisko częstego występowania populacji bakterii towarzyszących roślinom wskazuje na to, że zdrowe rośliny zawierają zespoły tzw. bakterii endofitycznych, dla których rośliny stanowią prawie niezbędną niszę. Zakłada się, że organizmy te mogą wzmacniać wzrost roślin, także zwiększać biologiczną kontrolę nad chorobami. Liczne badania wskazują, że bakterie endofityczne wspomagają nie tylko rozwój korzenia roślin, ale także wchodzą w relacje z innymi bakteriami glebowymi lub gatunkami organizmów, które należą do innej grupy systematycznej. Czasami wspólne sąsiedztwo bakterii przyczynia się do zwiększenia liczebności populacji, a tym samym do poprawienia właściwości gleby, przez co rośliny dostają lepsze warunki do wzrostu. Czasem jednak wzajemne bytowanie może przynosić negatywne rezultaty [1].

Przeprowadzone doświadczenie miało na celu analizę wzajemnych relacji zachodzących pomiędzy bakteriami endofitycznymi z rodzaju *Herbaspirillum frisingense* i bakteriami brodawkowymi *Sinorhizobium meliloti* Bp oraz zbadanie kondycji roślin poddanej koinokulacji wyżej wymienionymi szczepami w warunkach *in vitro*.

## MATERIAŁY I METODY

### ***Analiza interakcji pomiędzy szczepami bakterii***

Doświadczenie przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych. W analizach wykorzystano szczep *Sinorhizobium meliloti* Bp wchodzący w symbiozę z lucerną (charakteryzujący się bardzo dużym stopniem aktywności wiązania azotu) pochodzący z kolekcji Zakładu Mikrobiologii IUNG w Puławach oraz *Herbaspirillum frisingense* pochodzący z kolekcji Mikroorganizmów i Kultur Komórkowych w Braunschweigu. W badaniu oddziaływań zastosowano następujące warianty doświadczenia:

1. *Herbaspirillum frisingense* a *Sinorhizobium meliloti* Bp,
2. *Sinorhizobium meliloti* Bp a *Herbaspirillum frisingense*.

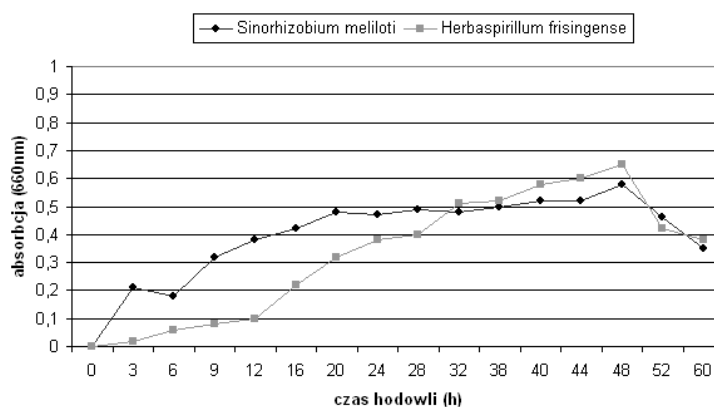
Każdy z wariantów badano w trzech kombinacjach:

1. hodowla 48 godzinna,
2. osad – uzyskany po odwirowaniu hodowli,
3. supernatant - uzyskany po odwirowaniu hodowli.

Przed rozpoczęciem badania użyte w doświadczeniu szczepy przepasażowywano na skosy ze świeżą pożywką odpowiednią dla *Sinorhizobium meliloti* Bp i *Herbaspirillum frisingense*.

Ponadto dla każdego szczepu na podstawie analizy spektrofotometrycznej wg Pelczera [14] wyznaczono krzywą wzrostu hodowli bakterii, która pozwoliła na wyznaczenie momentu, w którym hodowla wykazywała największą aktywność metaboliczną oraz momentu zahamowania jej wzrostu (Rys. 1). Z przeprowadzonych analiz wywnioskowano, że 48 godzinna hodowla zarówno dla jednego jak i drugiego szczepu była odpowiednia.

Z trzydniowych hodowli szczepów wyjściowych *Herbaspirillum* i *Sinorhizobium* kilkakrotnie pasażowanych, wyrosłych na skosach agarowych, wykonano zawiesinę poprzez dodanie 5 ml jałowej wody destylowanej do każdej próbówki. Otrzymaną zawiesinę w ilości 0,1 ml zaszczipiono 100 ml płynnej pożywki YM [16] dla *Sinorhizobium* i LB dla *Herbaspirillum frisingense* (5 kolb dla każdego szczepu). Zaszczepione pożywki inkubowano na wytrząsarce w temperaturze 28°C przy 70 obr./min, przez 48 godzin. Po tym czasie jedną kolbę z hodowlą pobrano do analiz, a pozostałe odwirowano w wirówce (1000 obr./min.), w celu pozyskania następných kombinacji osadu i supernatantu.



Rys. 1. Krzywa wzrostu bakterii

Wzajemne oddziaływanie pomiędzy poszczególnymi szczepami bakterii badano na płytkach Petriego metodą pierścieniową. Wszystkie analizy wykonano w pięciu powtórzeniach.

Na odpowiednio opisane, wyjałowione płytki Petriego rozlano 5 ml 2% agaru. Następnie na zestalony 2% agar nałożono w sposób jałowy sterylne pierścienie za pomocą pęsety; na każdą płytkę trzy. Po nałożeniu pierścieni na płytkę ostrożnie wylano przygotowaną mieszaninę rozpuszczonej pożywki (10 ml) i odpowiedniego rozcieńczenia bakteryjnego ( $10 \times 10^{-5}$ ), tak aby nie dostała się ona do wnętrza pierścienia. Po wystudzeniu jałowo i delikatnie usunięto pierścienie z płytek. W miejscach dwóch otworów naniesiono 1 ml przygotowanej kombinacji (hodowla, osad, supernatant) bakterii, a w trzeciej umieszczono sól fizjologiczną będącą próbą kontrolną. Następnie płytki te pozostawiono na okres jednej godziny, aby zawiesina mogła zostać zaabsorbowana. Po tym czasie płytki wstawiono do termostatu o temperaturze 28°C (płytek nie odwracano).

#### **Analiza kondycji roślin przy jednoczesnym jej szczepieniu**

Równoległe do wyżej opisanych badań przeprowadzono doświadczenie mające na celu zbadanie kondycji rośliny poddanej koinokulacji wyżej wymienionymi szczepami w warunkach *in vitro*. Rośliny lucerny siewnej (*Medicago sativa* L.), odmiana Socza, hodowano na podłożu agarowym dla roślin motylkowatych, w czterech kombinacjach:

I kombinacja – roślina nie szczepiona (kontrola),

II kombinacja – roślina szczepiona *Sinorhizobium meliloti* Bp,

III kombinacja – roślina szczepiona *Herbaspirillum frisingense*,

IV kombinacja – roślina szczepiona *Herbaspirillum frisingense* i *Sinorhizobium meliloti*.

Na każdą kombinację przypadało po 25 próbek.

Przed założeniem hodowli nasiona roślin sterylizowano przez 25 minut w 5% podchlorynie sodu na wytrząsarce, a następnie kilkakrotnie przemyto jałową wodą i umieszczono na płytkach Petriego, w celu podkiełkowania, na okres 4 dni, w temp. 24°C. Podczas kiełkowania nasion przygotowano skosy agarowe dla roślin motylkowatych, na które następnie nanoszono nasiona lucerny. Po 24 h korzonki zakażano zawiesiną trzydniowych szczepów bakterii w ilości 0,1 ml/roślinę. Szczepy, którymi inokulowano nasiona, namnażano na skosach, na pożywce YMA, a dla *Herbaspirillum* na pożywce LB.

Rośliny hodowano w pomieszczeniu wegetacyjnym w temp 23°C, przy 16 godzinnym okresie naświetlania. W doświadczeniu laboratoryjnym przedmiotem analiz były następujące parametry:

1. aktywność nitrogenazy,
2. ilość brodawek korzeniowych,
3. masa części nadziemnych i podziemnych,
4. liczebność drobnoustrojów kolonizujących korzenie,
5. analizy wykonywano po 5, 14, 28 dniach od inokulacji.

Aktywność nitrogenazy określano metodą acetylenową na chromatografie gazowym CHROM5 [15], na podstawie ilości zredukowanego acetyleny do etylenu i wyrażano w  $n\text{MC}_2\text{H}_4$ . Masę części nadziemnych i podziemnych określano wagowo na wadze Sautorius. Z kolei liczebność bakterii zasiedlających korzeń lucerny określano metodą płytek lanych wg Kocha. W tym celu po zważeniu korzeni roślin, rozmacerowywano je w moździerzu w 10 ml wody jałowej, a następnie dokonywano kolejnych rozcieńczeń uzyskanej zawiesiny. Odpowiednie rozcieńczenie wylewano na płytki i zalewano pożywką YMA dla bakterii z rodzaju *Rhizobium* i LB dla endofitów z rodzaju *Herbaspirillum*.

## WYNIKI I DYSKUSJA

### ***Analiza wyników oddziaływań pomiędzy bakteriami użytymi do badań***

W badaniu oddziaływania *Herbaspirillum frisingense* na *Sinorhizobium meliloti* BP we wszystkich trzech kombinacjach (hodowla 48 h, osad i supernatant) zanotowano stymulację wzrostu wysianych bakterii z rodzaju *Sinorhizobium*. Na płytkach wokół pierścienia zanotowano zwiększoną ilość kolonii bakterii (Fot. 1, 2, 3). Przyczyn wzrostu bakterii nie można jednoznacznie określić, lecz z dużym prawdopodobieństwem można przypuszczać, że taki rodzaj oddziaływania *Herbaspirillum* na szczep bakterii brodawkowych wynika z produkcji przez wymienione endofity fitohormonów takich jak: kwas indoliloctowy (IAA), gibereliny, czy cytokininy [6, 8]. Ponadto związkami odpowiedzialnymi za stymulujący rodzaj oddziaływania mogły być także witaminy [9].

Z kolei badanie wzajemnego oddziaływania pomiędzy szczepem *Sinorhizobium meliloti* a szczepem *Herbaspirillum frisingense* wykazało, że w przypadku hodowli i supernatantu zanotowano antagonistyczne oddziaływanie. Nastąpiło zahamowanie wzrostu wysianych bakterii endofitycznych, a powstałe halo miało szerokość 4,5 mm w przypadku supernatantu (Fot. 4) i 3 mm w przypadku hodowli (Fot. 5). Przeciwna sytuacja miała miejsce w kombinacji z osadem, gdzie zanotowano stymulujące działanie szczepu *Sinorhizobium* na *Herbaspirillum*. Kolonie wyrosłe wokół pierścienia były większe i liczniejsze (Fot. 6).

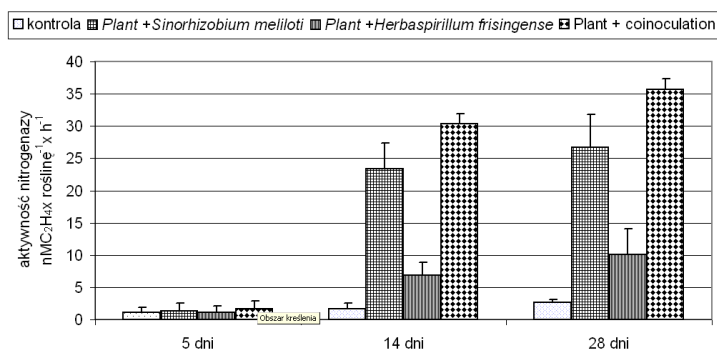
Otrzymane wyniki wskazują na to, że sam szczep bakterii brodawkowych jest neutralny wobec *Herbaspirillum*, natomiast gromadzące się wtórne metabolity w pożywce podczas inkubacji szczepu są toksyczne. Efekt antagonistyczny można tłumaczyć syntetyzowaniem związków o charakterze toksyn bakteryjnych, które zostały wydzielone do środowiska. Lorkiewicz zwraca uwagę na niektóre właściwości fenotypowe bakterii brodawkowych, np. produkcję antybiotyków. Dzięki tej cesze bakterie bronią zajmowany przez siebie teren przed atakiem innych drobnoustrojów [10].

Poszczególne kultury mają zdolność wytwarzania antybiotyków przeciwbakteryjnych lub przeciwgrzybiczych. Niektóre z nich określa się jako beta-laktamy lub polietery. Inne szczepy mają możliwość syntetyzowania egzoenzymów [11]. *Sinorhizobium meliloti* posiada zdolność produkowania i gromadzenia glutaminianów oraz dwupeptydo-N-acetyloglutaminylo-glutami-ny. Związki te mogą mieć aseptyczny wpływ na inne drobnoustroje, bowiem stają się one szkodliwe w nadmiernych ilościach. Warto są również zauważenia pozytywne cechy tych związków. Pełnią one mianowicie ważne funkcje metaboliczne, stanowiąc substrat w syntezie białek, a także pomagają w transporcie azotu.

### Analiza kondycji roślin przy jednoczesnym jej szczepieniu

Na podstawie uzyskanych wyników z przeprowadzonych badań w warunkach laboratoryjnych nad efektem jednoczesnej inokulacji lucerny wyżej omawianymi szczepami bakterii *Sinorhizobium meliloti* i *Herbaspirillum frisingense*, stwierdzono korzystne oddziaływanie takiego szczepienia na proces symbiozy i plonowanie lucerny siewnej. Świadczy o tym zwiększona liczba brodawek korzeniowych, większa aktywność nitrogenazy i masa roślin.

Uzyskane wyniki wskazują, iż największą aktywność nitrogenazy zanotowano w kombinacjach roślin, gdzie zastosowano koinokulację *Sinorhizobium* – *Herbaspirillum*, zarówno w drugim jak i trzecim terminie (Rys. 2).



Rys. 2. Wpływ koinokulacji na aktywność nitrogenazy

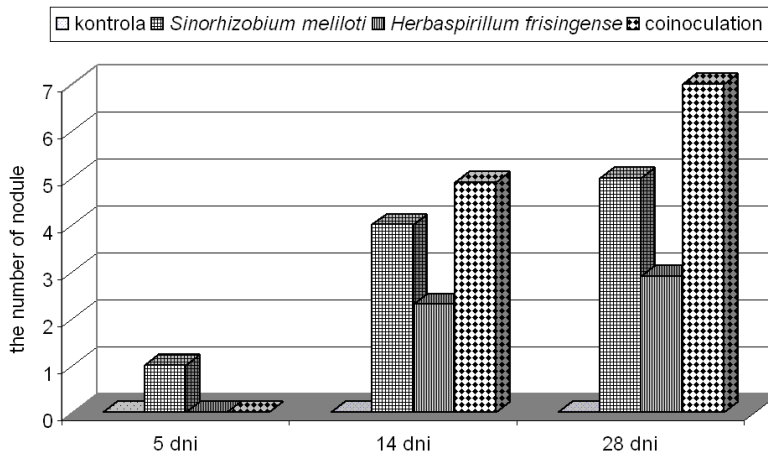
Wynosiła ona odpowiednio 30,4 nMC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/roślinę/h po 14 dniach hodowli roślin, natomiast po 28 dniach 35,63 nMC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/roślinę/h i była średnio o 23% wyższa od aktywności nitrogenazy u roślin szczepionych wyłącznie szczepem *Sinorhizobium meliloti* Bp.

Z kolei biologiczne wiązanie azotu u lucerny szczepionej endofitami z rodzaju *Herbaspirillum* kształtowało się na stosunkowo niskim poziomie we wszystkich terminach analiz, a najefektywniejsze było w trzecim terminie analiz i wynosiło 10,13 nMC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/roślinę/h (Rys. 2).

Pomimo braku brodawek u lucerny po 5 dniach hodowli od inokulacji roślin, notowano jednak niewielkie wiązanie azotu we wszystkich kombinacjach, z wyjątkiem rośliny kontrolnej nie poddanej szczepieniu (Rys. 2).

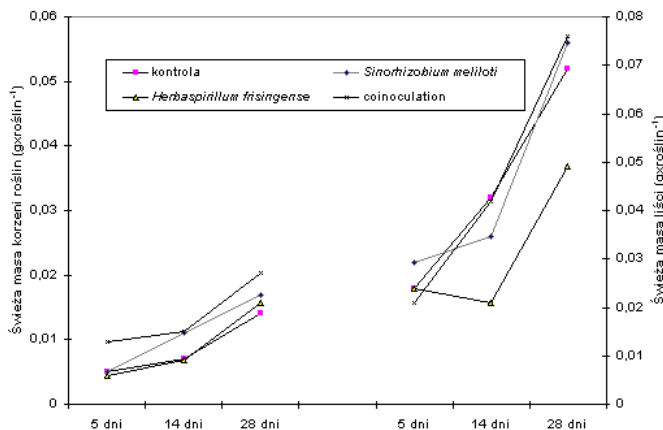
Podobnie jak aktywność nitrogenazy również nodulacja roślin była największa w kombinacji, w której zastosowano jednoczesne szczepienie bakteriami symbiotycznymi i endofitami, zarówno w 14, jak i w 28 dniu hodowli roślin (Rys. 3).

Brodawki miały różowe zabarwienie, co świadczyło o obecności w nich leghemoglobiny, będącej świadectwem zachodzącego procesu wiązania azotu.



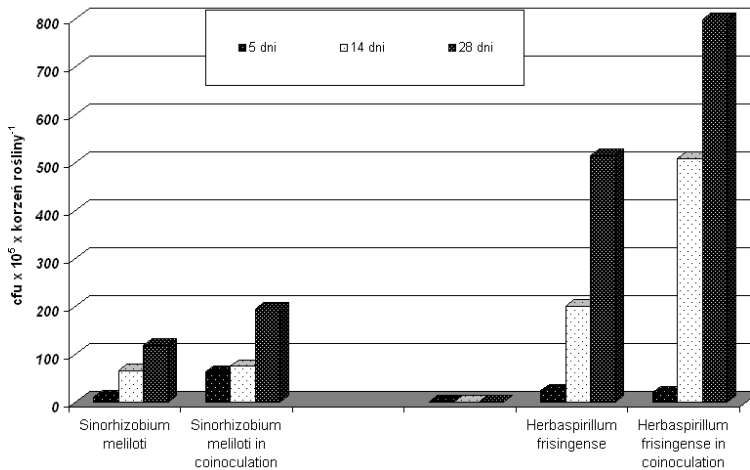
Rys. 3. Wpływ koinokulacji na brodawkowanie

Rośliny poddane jakiegokolwiek inokulacji (szczególnie w terminie drugim i trzecim) odznaczały się większą masą korzeni i części nadziemnych roślin w stosunku do kontroli (Rys. 4).



Rys. 4. Wpływ koinokulacji na świeżą masę roślin

Zanotowano jednak wyraźny wpływ zastosowanej jednoczesnej inokulacji szczepami *Sinorhizobium meliloti* i *Herbaspirillum frisingense* na masę korzeni. W każdym terminie analiz była ona wyższa nie tylko od masy korzeni rośliny kontrolnej, ale także od rośliny w kombinacji szczepionej samym szczepem bakterii z rodzaju *Sinorhizobium* lub *Herbaspirillum* (Rys. 5).



Rys. 5. Liczba bakterii brodawkowych i endorhizalnych

Podobny efekt jednoczesnego zastosowania szczepów *Sinorhizobium* i *Herbaspirillum* uzyskano w przypadku masy części nadziemnych. Rośliny w kombinacji poddanej koinokulacji charakteryzowały się znacznie większą masą zieloną, która po 28 dniach była prawie 10-krotnie wyższa od rośliny zakażonych samym szczepem *Sinorhizobium meliloti* Bp czy *Herbaspirillum frisingense*. Otrzymane wyniki tłumaczyć można zdolnością tych drobnoustrojów do syntetyzowania i wydzielania do środowiska substancji biologicznie czynnych zwanych fitohormonami. Uważa się, że mają one korzystny wpływ na rozwój i wzrost oraz rozgałęzienia się włośników korzeniowych, przez co roślina staje się bardziej podatna na infekcje *Rhizobium*, a także na rozwój populacji bakterii symbiotycznych w tej kombinacji [9]. Zostało to również wykazane w badaniach Bashana [2] i Chebotar [5] prowadzonych z udziałem bakterii *Azospirillum* i *Bradyrhizobium*.

Korzystny wpływ endofitów z rodzaju *Azospirillum* na rośliny, wynikający z wydzielania fitohormonów takich jak auksyny i cytokiny, stymulujących rozwój włośników korzeniowych u roślin motylkowatych zanotowali również Głowacka [7] i Burdman [4].

Itzigshon donosi również o korzystnym wpływie koinokulacji *Rhizobium* – *Azospirillum* na liczbę brodawek, wydajność ziarna roślin motylkowatych, wzrost długości pędu, wagę, liczbę włośników i średnicę korzenia.

Dodatkowym parametrem badań było oznaczanie liczebności bakterii symbiotycznych i endofitów na korzeniach lucerny. Miało ono na celu sprawdzenie, czy szczep *Herbaspirillum* jest konkurencyjny w stosunku do bakterii brodawkowych w zasiedlaniu korzenia, w zastosowanej koinokulacji.

Największą kolonizację korzeni bakteriami brodawkowymi zanotowano po 28 dniach hodowli roślin, zarówno w pojedynczym szczepieniu jak i koinokulacji.

Jednak w kombinacji, w której zastosowano szczepienie samym szczepem *Sinorhizobium meliloti* Bp występowała niższa populacja bakterii symbiotycznych niż w kombinacji, w której zastosowano koinokulację.

W przypadku endofitów największą kolonizację korzenia zanotowano również w 28 dniu

hodowli roślin, gdzie w pojedynczym szczepieniu ilość bakterii z rodzaju *Herbaspirillum* na korzeniu wynosiła  $51,53 \times 10^5$  jtk, natomiast w kombinacji z zastosowaną koinkulacją  $160 \times 10^5$  jtk. Taki efekt może wynikać ze zbadanych interakcji pomiędzy użytymi do badań szczepami.

### WNIOSKI

W badaniu oddziaływania *Herbaspirillum frisingense* na *Sinorhizobium meliloti* BP we wszystkich trzech kombinacjach (hodowla 48 h, osad i supernatant) zanotowano stymulację wzrostu wysianych bakterii z rodzaju *Sinorhizobium*.

Badanie wzajemnego oddziaływania pomiędzy szczepem *Sinorhizobium meliloti* a szczepem *Herbaspirillum frisingense* wykazało, że w przypadku hodowli i supernatantu zanotowano antagonistyczne oddziaływanie.

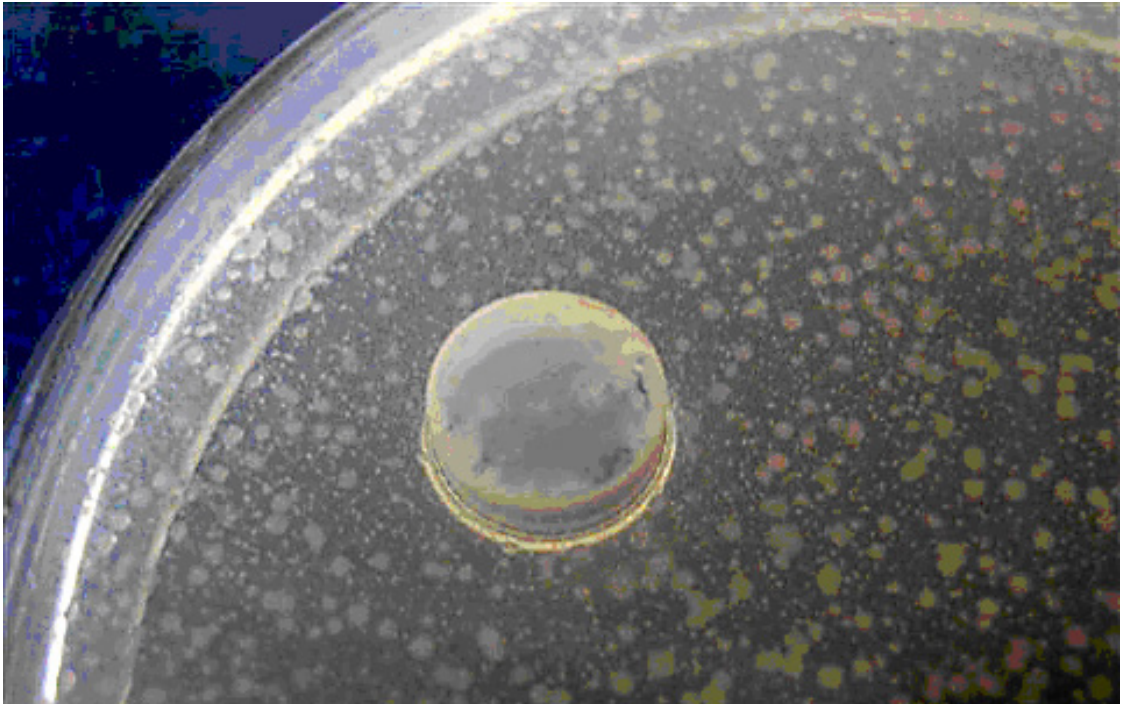
Stwierdzono korzystne oddziaływanie jednoczesnego szczepienia *Sinorhizobium meliloti* i *Herbaspirillum frisingense* na proces symbiozy i plonowanie lucerny siewnej. Świadczy o tym zwiększona liczba brodawek korzeniowych, większa aktywność nitrogenazy i masa roślin.

### LITERATURA

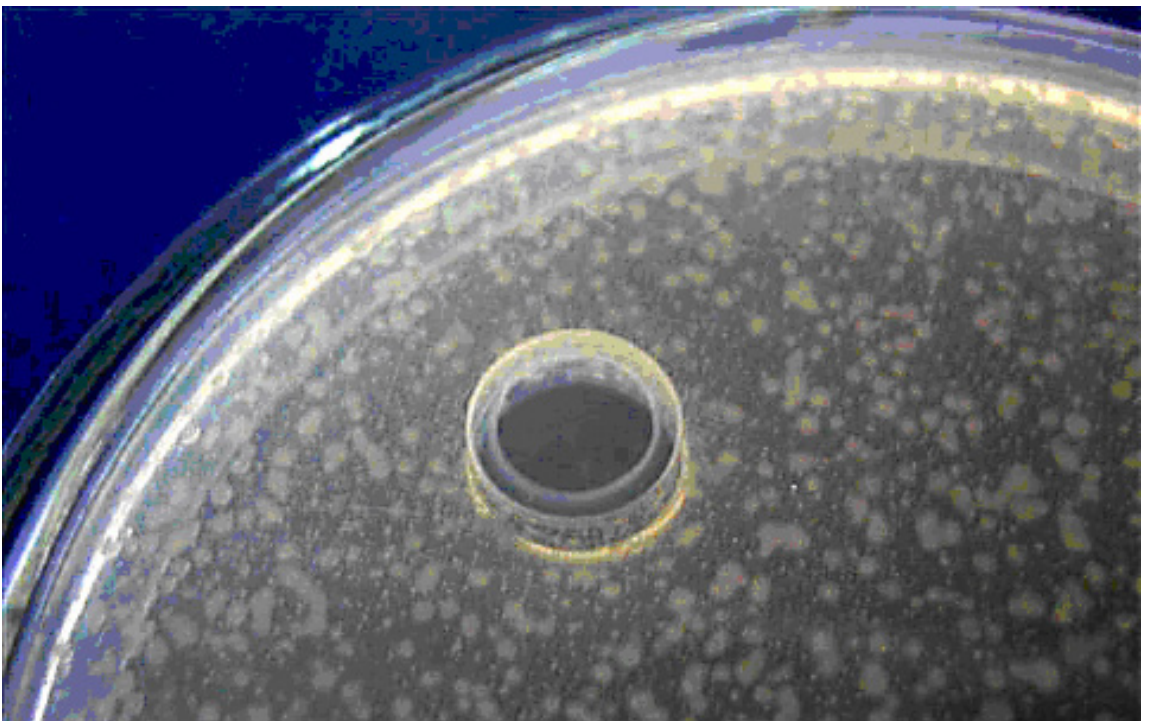
- [1] Badura L.: *Mikroorganizmy w ekosystemach lądowych.*, Mat. Konf. Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach, 11–22, (2002)
- [2] Bashan Y.: *Interaction of Azospirillum spp. in soils: a review* Biol Fertil. Soils., **29**, 246–256, (1999).
- [3] Bertani G.: *Lysogeny at mid-twentieth century: P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> and other experimental systems*, J. Bacteriol., **3 (186)**, 595–600 (2004).
- [4] Burdman S., S. Saring, J. Kigel: *Field inoculation and common bean (Phaseolus vulgaris L.) and chick pea (Cicer arietinum L.) with Azospirillum brasilense strain*, Cd. Symbiosis, **24**, 41–48, (2001).
- [5] Chebotar V.K., C. Asis, S. Akao: *Production of growth – promoting substances and high colonization ability of rhizobacteria enhance the nitrogen fixation of soybean when coinoculated with Bradyrhizobium japonicum*, Biol. Fertil. Soils., **34**, 427–437, (2001).
- [6] Ciacciari J., D. Lippi, T. Pietrosanti, W. Pietrosanti: *Phytohormone – like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of Azospirillum and Arthrobacter*, Plant and Soil, **115**, 151–153, (1989).
- [7] Głowacka M.: *Możliwości zwiększania symbiotycznego wiązania azotu*, Post. Mikrobiol., **29**, 1/2, 17–23, (1990).
- [8] Kabay A.: *Rapid quantitative microbiological assay of antibiotics and chemical preservatives of nonantibiotic nature*, Applied Microbiology, vol. **22**, No. **5**, 752–755.
- [9] Król M. J.: *Interakcje Azospirillum spp z mikroorganizmami glebowymi*, Post. Nauk Rolnicz., **5**, 137–145, (2003).
- [10] Lorkiewicz Z.: *Konkurencja Rhizobium w brodawkowaniu roślin motylkowych*, Post. Mikrob., **33**, 137–145, (1994).
- [11] Muñoz-Rojas J., L.E. Fuentes-Ramirez, J. Caballero-Mellado: *Antagonism among Gluconobacter diazotrophicus strains in culture media and in endophytic association*, Microbiology Ecology, **54**, 57–66, (2005).



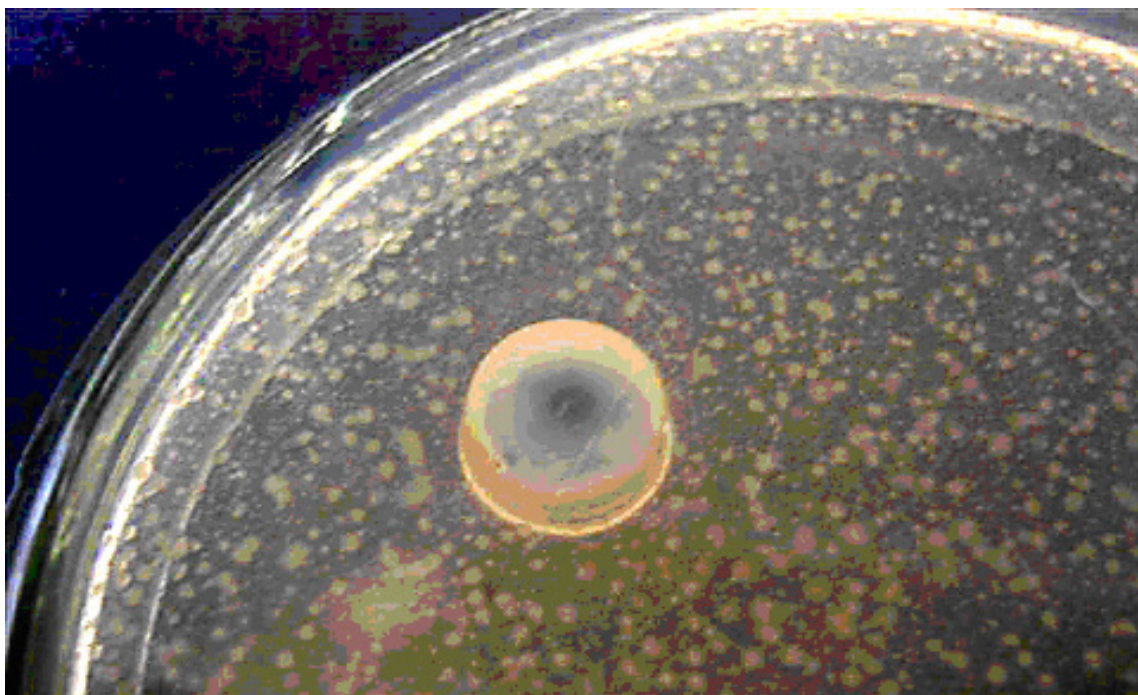
- [12] A. Parzych, Z. Sobisz, J. Trojanowski: *Variability of Nitrogen and Phosphorus Concentration and the Net Primary Production of Vaccinium Vitis-Idaea L. and Vaccinium Myrtillus L. in Chosen Woodland Ecosystems of the Słowiński National Park*, Arch of Envir. Protection, **36(2)**, 91–104, (2010).
- [13] Pedraza R. O.: *Recent advancee in nitrogen – fixing acetic acid bacteria*, Jour. of Food Microbiol., **125**, 25–35, (2008).
- [14] Pelczar J.M.: *Manual of microbiological methods*, Graw-Hill Co. New York-Toronto-London, pp.280, (1957).
- [15] Sawicka A.: *Ekologiczne aspekty wiązania azotu atmosferycznego*, Rozprawy naukowe, **143**. Roczn. Akad. Rol., Poznań (1983).
- [16] Somesegaran P., H.J. Hoben: *Handbook for Rhizobia.*, Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg (1994).



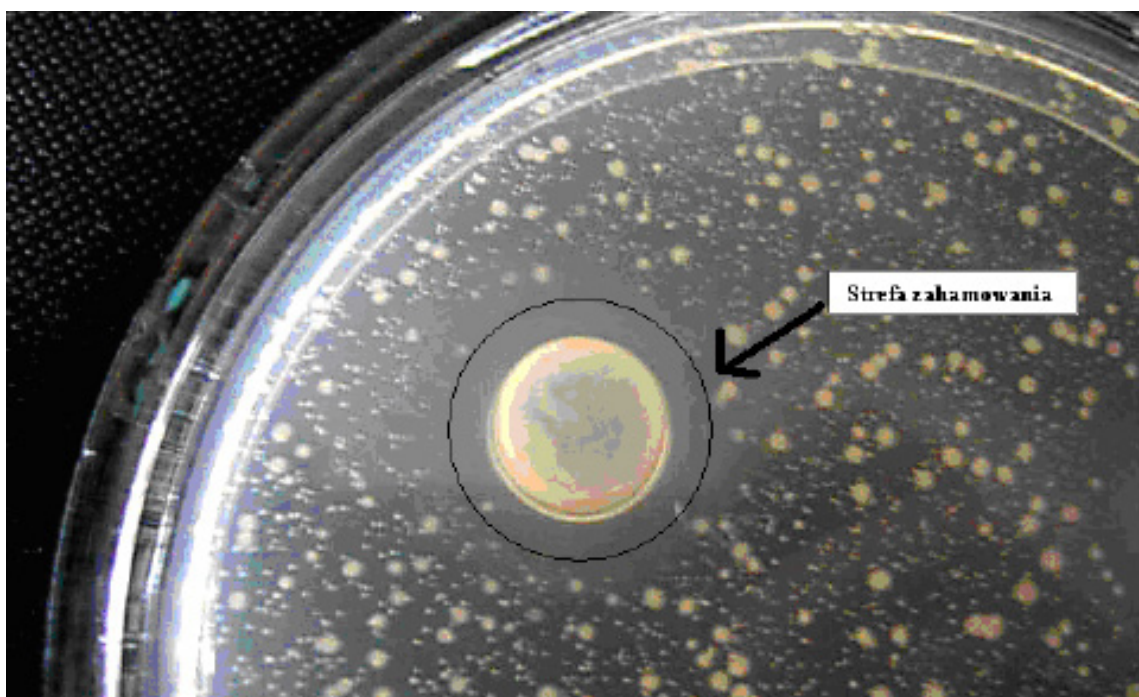
Zdjęcie 1. Interakcje pomiędzy *Herbaspirillum frisingense* (hodowla) i *Sinorhizobium meliloti*



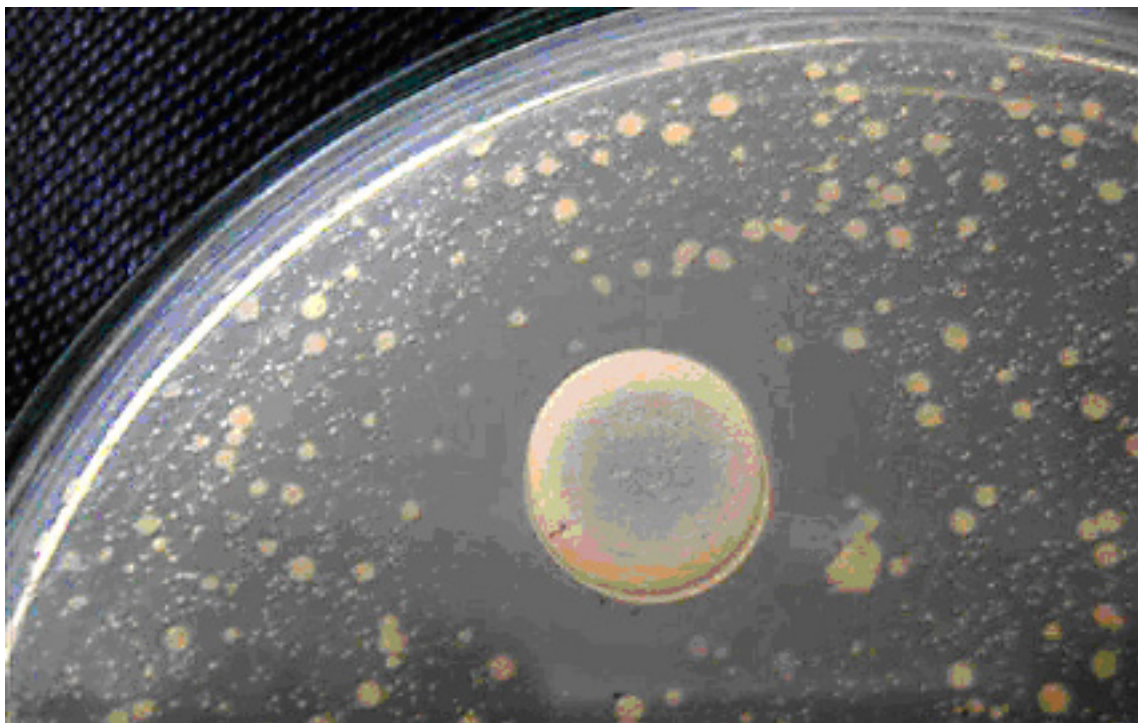
Zdjęcie 2. Interakcje pomiędzy *Herbaspirillum frisingense* (osad) i *Sinorhizobium meliloti*



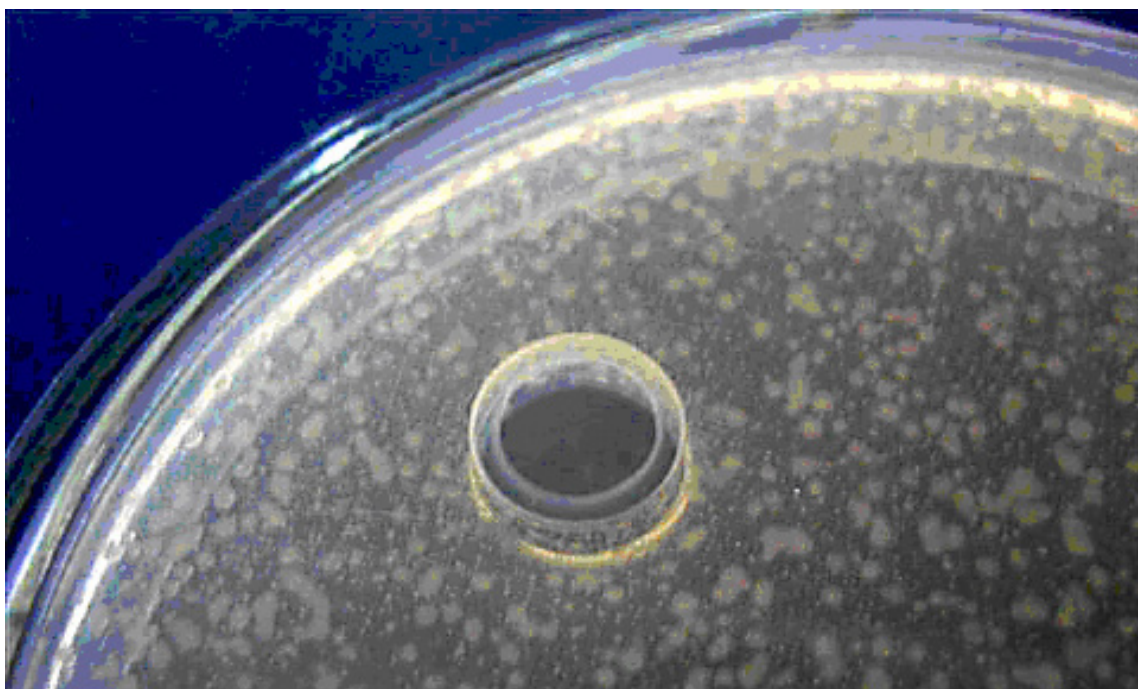
Zdjęcie 3. Interakcje pomiędzy *Herbaspirillum frisingense* (supernatant) i *Sinorhizobium meliloti*



Zdjęcie 4. Interakcje pomiędzy *Sinorhizobium meliloti* (supernatant) i *Herbaspirillum frisingense*



Zdjęcie 5. Interakcje pomiędzy *Sinorhizobium meliloti* (hodowla) i *Herbaspirillum frisingense*



Zdjęcie 6. Interakcje pomiędzy *Sinorhizobium meliloti* (sediment) i *Herbaspirillum frisingense*